

## カーネーション茎頂培養での水浸状化防止に 及ぼす培地添加支持体の効果

松原幸子・大森誉一<sup>a)</sup>・小正富知美<sup>a)</sup>・高田裕子<sup>a)</sup>  
深沢広祐<sup>b)</sup>

(生物機能・遺伝資源開発学講座)

Received November 1, 1990

### Effects of Media on Overcoming Vitrification of Carnation in Apex Culture

Sachiko MATSUBARA, Yoichi OHMORI<sup>a)</sup>, Tomomi KOMASADOMI<sup>a)</sup>  
Yuko TAKADA<sup>a)</sup> and Hirotsuke FUKASAWA<sup>b)</sup>  
(Division of Biological Function and Genetic Resources Science)

For overcoming vitrification of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in apex culture, effects of three kinds of media were studied by using carnation cvs. "Natyla" and "Pink Casino". A basal medium was composed of Hyponex,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , Na-EDTA, pyridoxine-HCl, kinetin, NAA and sucrose, and 0.6% agar, 0.2% gelrite or paper bridge was added to a basal medium. Shoot apices were dissected from main and lateral shoots, planted on media and cultured for 3 months under 16h day length of 3000 lx supplemented with artificial light at 25°C.

Apices of 87~93% on agar medium grew to normal shoots, but all or 53% apices on gelrite medium grew vitrified multiple buds in "Natyla" or "Pink Casino", respectively. Apices of 20% or 73% on paper bridge grew normal shoots in "Natyla" or "Pink Casino", respectively. Although fresh and dry weight of shoots on gelrite medium was most heavy, dry weight rate was most high on agar medium.

### 結 言

カーネーションは、挿し芽による栄養繁殖で発根が容易であり、増殖率も良いことから一般に挿し芽増殖を行う。しかし一方、栄養繁殖であるため殆どの株が発根の程度に差があってもウイルスに罹病しており、その影響が出て来ている。そこでウイルスフリー株を育成するために茎頂培養が行われ、一度ウイルスフリー株が育成されれば、その株を組織培養により増殖して栽培に適用することが出来る。その際種々の培地が用いられる。しかし培地によっては伸長した植物が水浸状化(vitrification)したり、正常な発根が見られなかったりする。これらの問題を解決するために、培地に添加する支持体について検討した結果について報告する。

a) 神戸女子大学バイオテクノロジー研究センター (Kobe Women's University, Biotechnology Research Center)

b) 神戸女子大学 (Kobe Women's University)

**Table 1** Plant growth of carnation “Natyla” and “Pink Casino” explants cultured on media gelled with agar or gelrite, and liquid medium with paper bridge

Cultivar Gelling chemical or Paper bridge			Percent of Normal Plant Shoots Multiple Buds		Percent of Vitrified Plant Shoots Multiple Buds	
Natyla	Agar 0.6% (A)		93	0	0	7
	Gelrite 0.2% (G)		0	0	0	100
	Paper Bridge (P)		20	0	47	33
Pink Casino	(A)		87	0	0	13
	(G)		40	0	7	53
	(P)		73	0	27	0

## 材 料 及 び 方 法

供試材料として、岡山大学農学部付属農場で栽培中のスプレータイプのカーネーション、*Dianthus caryophyllus* L. の品種“S. P. L. ナティラ”と“ピンクカジノ”を用いた。それぞれの品種の、頂芽と側芽を含む部分を1989年11月29日に約5 cmの長さで節の付け根から切り取り、3℃の冷蔵庫で貯蔵しておいた。12月8～10日に茎頂を種々の支持体を含む組成の培地に植え付けた。外植体の調整の為に、茎頂側の0.5～1.5 cmの部分を切り取った後、下部の葉を取り除き、70%エタノール30秒、アンチホルミン10倍液（活性塩素、1%）10分で表面殺菌した。その後実体顕微鏡下で茎頂と1～2葉原基を含む0.3～0.5 mmの部分を取り出し、3種類の培地に植え付けた。基本培地としては、1 ℓ中にハイボネックス2.0 g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  と  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  を各100 mg, Na-EDTA30 mg, 塩酸ピリドキシン 4 mg, カイネチン0.1 mg, NAA0.5 mg, ショ糖30.0 gを含み、pH5.7に調整した。支持体として、寒天6 g（以後A培地とする）、gelrite 2 g（G培地）又はペーパーブリッジ（P培地）の3種類を別々に添加した。培養物は、25℃、16時間3000ルクスの人工光下で3か月培養し、2月21～23日に生長状態を観察した。



**Fig. 1** Plant growth of “Natyla” on the media added 0.2% gelrite (left), 0.6% agar (center) and paper bridge (right) 2 months after planting.

## 結 果

3か月培養した結果、正常に発育した植物と、水浸状の植物が見られ、それぞれに苗条が伸長したものと、多芽体になったものがあった。その割合を Table 1, Fig. 1 に示した。両品種共正常に生育したものは苗条が伸長し、多芽体にならず、特に寒天のA培地では正常植物率93%（ナティラ）、87%（ピンクカジノ）と多かった。次いでペーパーブリッジのP培地が良かったが、それでもA培地に比較するとナティラで正常個体率が20%と低くなった。gelriteのG培地は最も悪く、ナティラでは正常個体は0となった。逆に水浸状の植物はG培地で非常に多くなり、同時に多芽体になるものも多かった。G培地ではナティラで100%が水浸状となり同時に多芽体となった。ピンクカジノでは60%が水浸状となり、そのうち7%は苗条が伸長したが53%は多芽体となった。次いでP培地ではナティラで80%が水浸状とな

**Table 2** Plant growth of carnation “Natyla” and “Pink Casino” cultured on three media

Cultivar Media		Plant Height (mm)	No. of Root length leaves (mm)		No. of Root	Fresh wt.		Dry wt.		Dry wt./Fresh wt.	
						Top	Root	Top	Root	Normal Top	Vitrified Top
Natyla	A*	48.3 <sub>a</sub> **	18.1 <sub>bc</sub>	15.2 <sub>d</sub>	3.3 <sub>bc</sub>	211.7 <sub>bc</sub>	63.0 <sub>bc</sub>	19.8 <sub>bc</sub>	5.4 <sub>bc</sub>	0.097	0.076
	G	20.7 <sub>bc</sub>	77.5 <sub>a</sub>	62.1 <sub>a</sub>	8.2 <sub>a</sub>	689.0 <sub>a</sub>	220.3 <sub>a</sub>	53.6 <sub>a</sub>	23.2 <sub>a</sub>	—	0.078
	P	26.9 <sub>b</sub>	18.5 <sub>bc</sub>	41.0 <sub>bc</sub>	2.8 <sub>bc</sub>	147.1 <sub>cd</sub>	25.4 <sub>c</sub>	10.4 <sub>cd</sub>	3.0 <sub>c</sub>	0.083	0.072
Pink	A	15.8 <sub>bc</sub>	13.5 <sub>bc</sub>	20.3 <sub>d</sub>	2.7 <sub>bc</sub>	84.3 <sub>cd</sub>	26.1 <sub>c</sub>	7.3 <sub>d</sub>	2.2 <sub>c</sub>	0.085	0.080
Casino	G	22.8 <sub>b</sub>	26.3 <sub>b</sub>	50.5 <sub>ab</sub>	4.6 <sub>b</sub>	286.4 <sub>b</sub>	109.0 <sub>b</sub>	24.6 <sub>b</sub>	11.2 <sub>b</sub>	0.093	0.087
	P	4.8 <sub>c</sub>	6.3 <sub>c</sub>	23.5 <sub>d</sub>	1.1 <sub>c</sub>	27.0 <sub>d</sub>	4.6 <sub>c</sub>	2.4 <sub>d</sub>	0.4 <sub>c</sub>	—	—

\* A : 0.8% agar medium, G : 0.2% gelrite medium, P : Paper bridge medium.

\*\* Means within a column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level. (Duncan's multiple range test).

り、そのうち47%は苗条が伸長したが33%は多芽体となった。ピンクカジノでは27%が水浸状になったが総て苗条として伸長した。A 培地では水浸状植物は非常に少なく、ナティラでは7%、ピンクカジノでは13%でありその総てが多芽体になった。これらの植物体の生長量を調べたところ (Table 2), 両品種間、培地間で差が見られた。ナティラでは、A 培地で草丈が最も高いが、葉・根数や根長は多芽体のみの G 培地が最も多く、一方草丈は低かった。P 培地では草丈は A 培地での 1/2 であったが、根長は 2 倍以上あった。生体重、乾燥重はやはり多芽体の G 培地のものが重く、次いで A 培地のものであった。一方ピンクカジノでは総てにおいて G 培地のものが大きく、次いで A, P 培地の順であるが特に P 培地のものはいずれの点でも非常に小さかった。乾物率は、正常植物と水浸状植物について調べたが、地上部と地下部に分けたところ地下部では培地が十分に洗い流されなかったせいばかりつきが大きかったので地上部のみを第 3 表に示した。両品種について正常植物体で高かった。培地の間には有為差がなかった。G 培地では根が培地上に伸長し、培地中に正常に伸長しなかった (Fig. 1)。

## 論 議

カーネーションでは前述したように、培養の際培地によっては植物が水浸状となる事が大きな問題であり、水浸状植物は順化が困難で、その解決が望まれている。Kevers ら (1984) は、その原因としてパーオキシダーゼと IAA オキシダーゼ系によって制御されるエチレンの量により細胞壁の木化に必要なセルロースやリグニンが減少することによりもたらされる、と考えた<sup>2)</sup>。また Sutter & Langhans は、水浸状化した苗はエピクチクラが発達しておらず、順化過程での乾燥に耐えるのが困難である、と述べた<sup>3)</sup>。村上らは、ニンニクの培養で支持体として gelrite 0.2% を添加すると水浸状になったが、0.8% 寒天では正常であったことを報告している<sup>4)</sup>。またカーネーションの水浸状化は液体培地でもたらされるので固形培地で回復すること<sup>1)</sup>、寒天濃度を高めたり、容器内の湿度を下げることにより解決出来る<sup>5)</sup>、との報告もある。寒天のみならず、近年新しい培地として用いられるようになった gelrite (ジェランガム) は、水草に付着する菌 (*Pseudomonas elodea*) が生産する多糖類を精製し粉末にしたものである。更に従来から実用化されているペーパーブリッジなどの支持体も併せて比較をしてみたのが本実験である。また正常に生育した植物体であっても、発根が培地表面に多く見られ、培地内へはなかなか伸長しにくかったと言う問題点もある。この点も含め、本実験でよく観察した結果、水浸状の抑制には寒天培地が最も適し、gelrite は最も不適であった。gelrite は生長促進の効果があるにも拘らず、比較的多くの植物で水浸状を誘起しやすく、物

理的か化学的な問題点があると思われるが、はっきりしていない。植物によって異なるが、水浸状のものは水分を過剰吸収している<sup>4)</sup>。本実験においても乾物率から見たところ同様な結果となった。また A 培地上で、根は培地上でなく培地中に伸長した。これらのことからカーネーションの培養には寒天培地が適していることが分かった。

### 摘 要

スプレータイプのカーネーション“ナティラ”と“ピンクカジノ”を供試し、茎頂培養に適した培地の支持体を検討した。基本培地としてハイポネックス、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、Na-EDTA、塩酸ピリドキシン、カイネチン、NAA、しょ糖を含む培地に、支持体として寒天0.6%、gelrite 0.2%またはペーパーブリッジを別々に添加した。茎頂は0.3~0.5mmの部分を作り出し、培地に植え付けた。3か月培養の結果、寒天培地上で最も高率に正常な植物が生長し、gelrite 上では最も水浸状の、しかも多芽体が多かった。生体重と乾燥重の比較では、gelrite、寒天、ペーパーブリッジの順であったが、乾物率は寒天が最も高く、gelrite は低かった。

### 文 献

- 1) Davis, M. J., Baker, R. and Hanan, J. J. : Clonal multiplication of carnation by micropropagation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. **102**, 48—53 (1977)
- 2) Kevers, C., M. Coumans, M. -F. Coumans-Gilles and Th. Gaspar. : Physiological and biological events leading to vitrification of plants cultured in vitro. Physiol. Plant. **61**, 69—74 (1984)
- 3) Sutter, E. and R. W. Langhans. : Epicuticular wax formation on carnation plantlets regenerated from shoot tip culture. J. Amer. Soc. Hort. Sci. **104**, 493—496 (1979)
- 4) 村上賢治・磯山裕江・奥野かおり・松原幸子：ニンニクおよびサトイモの茎頂培養における寒天とジェランガム培地の比較。園学雑58 (別冊2), 699 (1989)
- 5) Ziv, M., M. Meir and A. H. Halevy. : Factors influencing the production of hardened carnation plantlets in vitro. Plant Cell Tissue Organ Cul. **2**, 55—65 (1983)